

ANALISIS KERAGAMAN GENETIK BEBERAPA POPULASI IKAN BATAK (*Tor soro*) DENGAN METODE *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHISM DNA* (RAPD)¹

(The Genetic Variation Analysis of Some Populations of Mahseer (*Tor soro*) Using *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD))

Estu Nugroho², Kadarwan Soewardi³ dan Adi Kurniawirawan⁴

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik ikan batak dari beberapa lokasi yang berbeda. Ikan batak yang digunakan dalam penelitian ini dikumpulkan dari Sungai Tarutung, Sungai Bahorok, Sungai Aek Sirambe dan Sungai Asahan di provinsi Sumatera Utara, dan dari Kabupaten Sumedang, Jawa Barat. Penelitian ini menggunakan metode Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata *heterozygote* adalah antara 0.0909 – 0.1407. Populasi ikan batak dari Tarutung dan Bahorok memiliki jarak genetik paling dekat dengan nilai 0.1272 dan populasi ikan batak dari Asahan dan Aek Sirambe memiliki jarak genetik paling jauh dengan nilai 0.3106. Dari dendrogram jarak genetik terlihat bahwa terjadi dua pengelompokkan populasi, kelompok pertama terdiri dari populasi Tarutung, Bahorok dan Asahan, dan kelompok kedua terdiri dari populasi Sumedang dan Aek Sirambe.

Kata kunci: ikan batak, *Tor soro*, RAPD.

ABSTRACT

The genetic variation of Mahseer (*Tor soro*) had been collected from North Sumatera (Tarutung, Bahorok, Aek Sirambe and Asahan) and West Java (Sumedang) was investigated by using Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) method. The aim of this research was to evaluate genetic variation of mahseer (*Tor soro*). By using RAPD the average range of heterozygote are between 0.0909 – 0.1407. The population of Tarutung and Bahorok have the nearest genetic distance with value 0.1272. And the biggest genetic distance was the population of Asahan and Aek Sirambe with 0.3106. From the dendrogram we can see two big group, first group consist of Tarutung, Bahorok and Asahan. The other group consist of Sumedang and Aek Sirambe.

Keywords: mahseer, *Tor soro*, RAPD.

PENDAHULUAN

Ikan batak (*Tor soro*) merupakan salah satu spesies ikan di Indonesia yang memiliki nilai penting, terutama untuk daerah Sumatera Utara, tetapi belum banyak dikenal. Ikan batak yang berada di Danau Toba hanya akan melakukan proses kawin dengan ikan batak setempat. Hal tersebut berdampak pada tidak bertambahnya masukan genetik baru. Selain itu, adanya kegiatan eksploitasi yang tinggi terhadap ikan batak akan mengurangi keragaman ikan tersebut karena pengambilan kekayaan genetik alami. Hal-hal tersebut akan mempengaruhi ke-

anekaragaman genetik yang ada sehingga diperlukan penelitian genetik mengenai ikan batak. Dari penelitian ini dapat dilihat keragaman genetik ikan batak guna menentukan status populasi ikan batak yang berkaitan erat dengan kestabilan dan kelangsungan suatu populasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik populasi ikan batak (*Tor soro*) yang berasal dari beberapa lokasi yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai Agustus 2006. Ikan uji yang digunakan adalah ikan batak dari Kabupaten Langkat (Sungai Bahorok), Kabupaten Asahan (Sungai Asahan), Kabupaten Tapanuli Utara (Sungai Ta-

¹ Diterima 17 Desember 2006 / Disetujui 19 April 2007.

² Balai Penelitian Perikanan Tawar (Balitkantar)- BRKP, DKP, Sempur, Bogor

³ Bagian Ekobiologi, Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

rutung), Kabupaten Toba Samosir (Sungai Aek Sirambe) dan Kabupaten Sumedang. Jumlah contoh per populasi yang digunakan untuk pengamatan DNA adalah 15 ekor. Peralatan yang digunakan meliputi PCR, sentrifuse, vortex, mikropipet, tip, tube, UV transilluminator, film polaroid, heater, dan kotak elektroforesis.



Gambar 1. Ikan Batak (*Tor soro*) dari Populasi Aek Sirambe (Sumber: Balai Perikanan dan Budidaya Air Tawar, Bogor)

Metode Kerja

Ekstraksi DNA

Metode ekstraksi DNA yang digunakan ialah metode *Phenolchloroform* (Nugroho *et al.*, 1997). Bagian dari tubuh ikan yang akan diekstraksi, yaitu potongan sirip dengan berat 5-10 mg, dimasukkan dalam tabung yang berisi 500 μ l larutan TNES urea. Kemudian contoh ditambahkan 15 μ l/ml protein Knase lalu divortex dan diinkubasi pada suhu 55⁰ C selama 1 jam. Selanjutnya campuran tersebut divortex dan ditambah larutan *Phenolchloroform* sebanyak 1000 μ l, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dipindahkan ke dalam tabung baru lalu ditambahkan 1.000 μ l larutan etanol 90% dan natrium asetat (NH₃ COONO₂) 10 μ l. Setelah itu campuran divortex dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk endapan berwarna putih. Hasil dari campuran tersebut lalu dipisahkan antara DNA dengan larutan. DNA yang telah terpisah dikeringkan dalam suhu kamar. Selanjutnya DNA ditambahkan dengan 50-100 μ l Rehydration Solution DNA.

Proses Amplifikasi

Amplifikasi PCR dilakukan dengan mencampurkan 1 unit *dry taq* produk Promega, 2 μ l DNA template, 2 μ l primer dan 21 μ l air de-

ngan volume total keseluruhan 25 μ l. Lalu dimasukkan dalam mesin PCR dengan 35 siklus, yaitu denaturasi awal pada 94⁰ C selama 2 menit, denaturasi 94⁰ C selama 1 menit, *annealing* 36⁰ C selama 1 menit, *elongasi* 72⁰ C selama 2 menit 30 detik, *elongasi* akhir 72⁰ C selama 10 menit dan proses penstabilan dengan suhu 4⁰ C selama 1 menit.

Analisa Data

Heterozygote

Heterozygote merupakan perpaduan dari alel-alel yang berbeda pada lokus yang sama dihitung dengan menggunakan persamaan (Nei dan Kumar, 2000):

$$h = 1 - \sum x_i^2$$

H = heterozygote, n = jumlah contoh dan x_i frekuensi alel contoh ke i .

Jarak Genetik

Hasil foto polaroid lalu diterjemahkan menjadi data berdasarkan ada atau tidaknya pita DNA. Keragaman genetik dilihat dengan menganalisis jarak genetik berdasarkan program UPGMA melalui persamaan:

$$D = -\ln \frac{J_{ab}}{(J_a J_b)^{0.5}}$$

D adalah jarak genetik, J_{ab} adalah frekuensi haplotipe pada lokus populasi yang sama, J_a dan J_b adalah frekuensi haplotipe pada populasi A dan B.

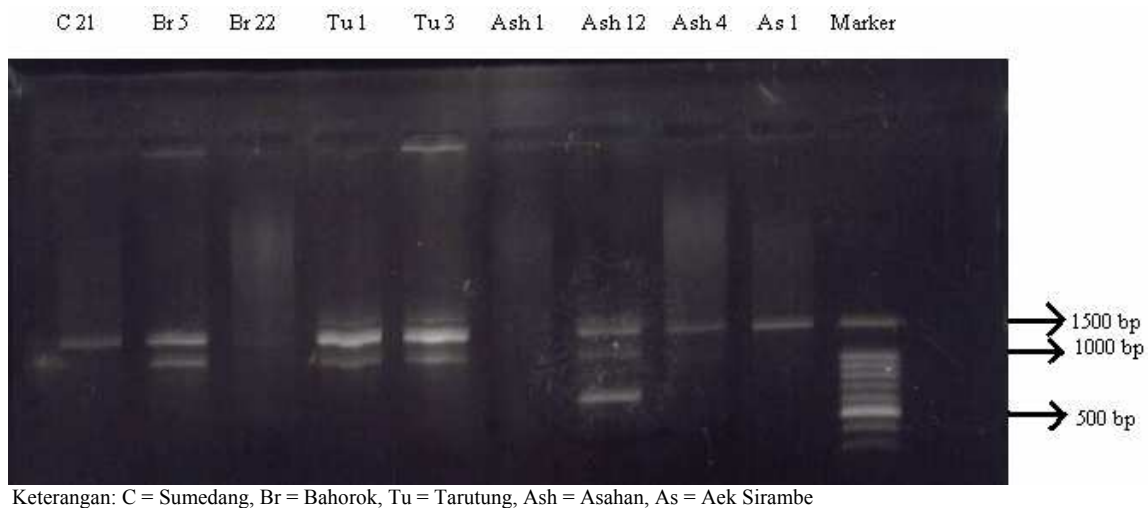
HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil Penanda DNA

Melalui proses *screening* terhadap 20 macam primer diperoleh dua macam primer yang dapat mengamplifikasi contoh DNA ikan batak (*Tor soro*), yaitu OPC 1 dan OPC 2. Dalam penelitian ini hanya digunakan primer OPC 1, karena walaupun dengan menggunakan OPC 2 terjadi amplifikasi, pita DNA yang dihasilkan sedikit dan polimorfismenya rendah. Panjang ukuran fragmen pita DNA yang dihasilkan setelah amplifikasi berkisar antara 600 bp sampai 2000 bp. Kisaran ini merupakan kisaran yang umum terjadi pada hasil PCR yang berkisar antara 200 bp sampai 5000 bp (Gambar 2).

Secara teoritis polimorfisme yang dideteksi RAPD terdiri dari beberapa tipe kejadian, yaitu (1) inversi DNA yang berukuran besar pada dua situs penempelan primer sehingga ukuran basa atau jarak amplifikasi menjadi terlalu besar yang berakibat hilangnya fragmen, (2) delesi pada bagian genom yang membawa satu atau dua situs penempelan primer sehingga meng-

akibatkan tidak ada fragmen yang teramplifikasi, (3) substitusi nukleotida yang mengubah homolog antara primer dengan DNA genom yang menyebabkan hilangnya polimorfisme atau mengubah ukuran fragmen, (4) insersi atau delesi fragmen kecil DNA yang dapat mengubah ukuran fragmen yang diamplifikasi (Weising *et al.*, 1995 in Matondang, 2000).



Gambar 2. RAPD Ikan Batak (*Tor soro*) dengan Menggunakan Primer OPC 01.

Keragaman Genetik Ikan Batak dalam Populasi

Nilai rata-rata *heterozygote* terendah dimiliki ikan batak dari populasi Sumedang, yakni 0.0909; sedangkan ikan batak populasi Tarutung memiliki nilai terbesar, yaitu 0.1407 (Tabel 1). Hasil rata-rata *heterozygote* ikan batak sangat kecil dibandingkan dengan ikan nila sebesar 0.6 (Nugroho *et al.*, 2002). Hal ini memberikan gambaran bahwa ikan batak memiliki keragaman genetik yang rendah. Keragaman genetik yang rendah akan mempengaruhi kemampuan spesies untuk dapat memberikan respon terhadap perubahan lingkungan baik buatan ataupun alami. Setiap kombinasi gen memiliki respon yang berbeda terhadap perubahan lingkungan, beragamnya gen memberikan peluang yang lebih baik untuk dapat merespon perubahan lingkungan. Nilai *heterozygote* yang rendah sesuai dengan kondisi alami populasi ikan batak yang terisolasi. Keadaan ini akan meningkatkan peluang terjadinya *inbreeding* sehingga akan mengakibatkan rendahnya variasi gen yang terbentuk dan menimbulkan gen spesifik.

Tabel 1. Nilai Rata-rata *Heterozygote* Tiap-tiap Populasi.

Sumedang	Tarutung	Bahorok	Asahan	Aek Sirambe
0.0909	0.1407	0.1049	0.1018	0.1036

Keragaman Genetik Ikan Batak Antar Populasi

Dengan menggunakan metode *Fst* tidak ada perbedaan genetik yang nyata antara populasi-populasi ikan batak yang diuji ($p > 0.05$). Nilai uji terkecil, yaitu 0.0872 antara populasi Sumedang dengan Bahorok. Sedangkan nilai uji terbesar, yaitu 0.9992 antara populasi Bahorok dengan Asahan (Tabel 2). Nilai uji antara populasi Sumedang dan Aek Sirambe yang bernilai 0.7468 cukup besar bila kita mengingat populasi Sumedang yang berasal dari pulau yang berbeda. Nilai ini memberikan gambaran dalam populasi Aek Sirambe telah terjadi perkawinan dengan populasi Sumedang, hal ini dapat terjadi karena sebelumnya di Danau Toba telah dilakukan kegiatan penebaran ikan batak dari populasi Sumedang. Pada nilai uji terlihat kisaran nilai

populasi Sumedang relatif lebih kecil dibandingkan dengan kisaran nilai populasi lainnya. Hal ini menggambarkan sebenarnya populasi Sumedang berbeda dengan populasi lainnya.

Tabel 2. Nilai Uji Statistik (F_{st}) antar Populasi dengan Selang Kepercayaan 95%.

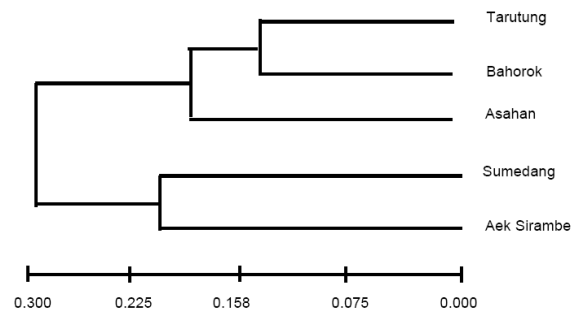
Populasi	Sumedang	Tarutung	Bahorok	Asahan
Tarutung	0,1999	-	-	-
Bahorok	0,3497	0,9983	-	-
Asahan	0,0872	0,9974	0,9992	-
Aek Sirambe	0,7468	0,7739	0,9211	0,7200

Nilai jarak genetik dapat memberikan gambaran mengenai bentuk kekerabatan antar populasi. Makin kecil nilai jarak genetik yang diperoleh maka makin dekat pula keragaman kedua populasi tersebut, demikian juga sebaliknya. Ikan batak dari populasi Tarutung dan Bahorok memiliki jarak genetik yang paling dekat dengan nilai 0.1272. Ikan batak dari populasi Asahan memiliki jarak genetik yang dekat dengan populasi Tarutung dan Bahorok dengan nilai berturut-turut sebesar 0.1855 dan 0.1616. Populasi Sumedang memiliki jarak genetik yang jauh dengan populasi Tarutung dan Bahorok dengan nilai berturut-turut 0.2937 dan 0.2599 tetapi memiliki jarak genetik yang dekat dengan Aek Sirambe sebesar 0.1942. Dari semua populasi, ikan batak dari Asahan dan Sumedang memiliki jarak genetik terjauh dengan nilai yaitu 0.3971 (Tabel 3).

Tabel 3. Jarak Genetik Ikan Batak *Tor soro* Tiap-tiap Populasi.

Populasi	Sumedang	Tarutung	Bahorok	Asahan
Tarutung	0.2937	-	-	-
Bahorok	0.2599	0.1272	-	-
Asahan	0.3971	0.1855	0.1616	-
Aek Sirambe	0.1942	0.2581	0.1781	0.3106

Jarak genetik yang diperoleh dari kelima populasi ikan batak menunjukkan nilai antara 0.1272 sampai 0.3971. Nilai jarak genetik ini dapat terjadi karena ikan batak secara geografis terisolasi. Hal ini mengakibatkan ikan batak tidak dapat melakukan migrasi yang memungkinkan terjadinya perkawinan dengan ikan batak di luar wilayah tersebut. Sehingga tidak terjadi penambahan gen baru dari luar yang dapat memperkaya keragaman genetik.



Gambar 3. Dendrogram Jarak Genetik Ikan Batak (*Tor soro*).

Dalam dendrogram terlihat terjadi dua pengelompokan populasi, kelompok pertama terdiri dari populasi Tarutung, Bahorok dan Asahan. Sedangkan kelompok kedua terdiri dari populasi Sumedang dan Aek Sirambe. Dalam kelompok pertama terlihat telah terjadi perkawinan antar populasi, tetapi karena ketiga populasi berasal dari wilayah sama dengan gen yang mirip sehingga walaupun terjadi perkawinan tidak akan menghasilkan variasi gen yang jauh berbeda. Hal ini terlihat dengan rendahnya nilai jarak genetik ketiga populasi. Sedangkan pada kelompok kedua kita dapat lihat kedekatan antara populasi Aek Sirambe dan Sumedang. Walaupun populasi Sumedang berasal dari luar wilayah keempat populasi lainnya tapi ternyata memiliki jarak genetik yang dekat dengan Aek Sirambe. Hal ini diduga karena sebelumnya di wilayah Danau Toba telah dilakukan kegiatan pennebaran ikan batak yang berasal dari Sumedang. Dari keempat populasi ikan batak, ternyata ikan batak dari Sumedang lebih dapat berinteraksi dengan ikan batak populasi Aek Sirambe.

Pengelolaan Sumberdaya Ikan Batak

Populasi ikan batak di wilayah Sumatera Utara terancam keberadaannya, hal ini disebabkan ikan batak bagi masyarakat Sumatera Utara merupakan ikan yang digunakan dalam upacara adat. Oleh karena itu, ikan batak memiliki nilai budaya sehingga nilai jualnya tinggi, yaitu Rp 500 000,-/kg. Hal ini mengakibatkan eksploitasi yang tinggi terhadap ikan batak. Oleh masyarakat setempat hasil penangkapan ikan batak dari alam tidak langsung dijual tetapi disimpan dalam kolam menunggu penyelenggaraan upacara adat. Adanya *introduksi* ikan baru seperti ikan nila ke dalam Danau Toba menjadi masalah baru bagi ikan batak karena ikan nila memakan te-

lur-telur ikan batak. Selain itu meningkatnya kerusakan habitat yang disebabkan manusia semakin mengancam populasi ikan batak. Oleh karena itu perlu dilakukan pengelolaan sumberdaya ikan batak secara tepat sehingga dapat meningkatkan kesejahteraan masyarakat dengan tetap mempertahankan kelestarian sumberdaya ikan batak.

Dalam upaya pengelolaan sumberdaya ikan batak diperlukan langkah-langkah sebagai berikut: *pertama*, perlindungan terhadap populasi dan habitat ikan batak; *kedua*, pembatasan penangkapan ikan batak berdasarkan ukuran; *ketiga*, perlindungan kawasan pemijahan telur ikan batak; *keempat*, kontruksi baru di kawasan habitat ikan batak diperbolehkan apabila memiliki latar belakang AMDAL yang memadai; dan *kelima*, mendorong program-program untuk memperkuat perlindungan terhadap ikan batak serta habitatnya melalui penegakan peraturan.

KESIMPULAN

Panjang ukuran fragmen pita DNA yang dihasilkan setelah amplifikasi berkisar antara 600 bp sampai 2000 bp. Nilai rata-rata *heterozygote* terendah dimiliki ikan batak dari populasi Sumedang yakni 0.0909, sedangkan ikan batak populasi Tarutung memiliki nilai terbesar yaitu 0.1407. Berdasarkan metode *Fst* tidak terdapat perbedaan genetik yang nyata antara populasi-populasi ikan batak. Dengan nilai uji terkecil yaitu 0.0872 antara populasi Sumedang dengan populasi Bahorok. Sedangkan nilai uji terbesar

yaitu 0.9992 antara populasi Bahorok dengan populasi Asahan. Populasi Tarutung dan populasi Bahorok memiliki jarak genetik yang paling dekat dengan nilai 0.1272 sedangkan jarak genetik terjauh bernilai 0.3106 antara populasi Asahan dan populasi Aek Sirambe. Berdasarkan jarak genetik terjadi dua pengelompokkan, kelompok pertama terdiri dari populasi-populasi Tarutung, Bahorok dan Asahan. Sedangkan kelompok kedua terdiri dari populasi Sumedang dan populasi Aek Sirambe.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian, keragaman populasi paling tinggi adalah populasi-populasi Bahorok dan Tarutung. Sedangkan nilai jarak genetik terjauh terdapat antara populasi-populasi Asahan dan Sumedang.

PUSTAKA

- Matondang, I. 2000. **Keragaman Genetik Kelapa Dalam Yang Berasal Dari Maluku Berdasarkan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)** [Tesis]. Jurusan Biologi. Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Nugroho, E. A. Widiati, Imron dan T. Kadarini. 2002. **Keragaman genetik ikan nila gift berdasarkan polimorfisme mitokondria DNA D-loop**. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia, 8(3).
- Nugroho *et al.* 1997. **Practical Manual on Detection of DNA Polymorphism in Fish Population Study**. In: Bulletin of Marine Science and Fisheries No. 17/1997. Kochi University. Japan.
- Nei, M. and S. Kumar. 2000. **Molecular Evolution and Phylogenetics**. Oxford University Press. United States.